

博士(獣医学) 今野明弘

学位論文題名

哺乳動物の globule leukocyte の由来に
関する免疫組織化学的研究

学位論文内容の要旨

ゲッ歯目動物からマウスを、食肉目動物からネコを、そして反芻亜目動物からヤギを供試動物として選択し、哺乳動物におけるglobule leukocyte (GL)の由来細胞種を確定すべく、組織化学的、免疫組織化学的、および一部電子顕微鏡的手法によって研究した。本論文の内容を以下に概説する。

1. マウスの胃腸管におけるGLの分布と免疫組織化学的性状

健常マウスの前部小腸を定量組織学的に観察した結果、GL、すなわちエオシン好性顆粒を有する上皮内単核球は、絨毛部と陰窓部の両方に認められた。アルシアン青好性およびヒスタミン免疫活性を示す上皮内肥満細胞は陰窓部に限局し、残る絨毛部上皮内の単核球のほとんどはCD8陽性を示した。これらの結果から、小腸絨毛部に分布するGLのほとんどはCD8陽性のT細胞であり、陰窓部に分布するGLのほとんどは肥満細胞であることが示唆された。

また胃体腺部の上皮内には多数のGLの浸潤が認められ、これらの細胞はヒスタミンおよびセロトニン免疫活性を示した。さらに同部位の凍結切片上ではCD8⁺T細胞は非常に少數であったことから、胃粘膜で認められるGLのほとんどは肥満細胞であることが示された。

電子顕微鏡的観察においても、小腸絨毛部上皮内には顆粒リンパ球が、胃体腺部上皮内には肥満細胞が高頻度に観察された。

以上の結果から、マウスの消化管上皮内に出現するGLは均質な細胞群ではなく、顆粒含有T細胞と肥満細胞からなる不均質な細胞群であり、この不均質性がマウスおよびラットにおけるGLの由来細胞種に関する

意見の不一致を招いていたものと考えられた。

2. ネコにおけるGLの全身分布と免疫組織化学的性状

健常成熟ネコにおいて、GLは胃から大腸までの消化管、胆嚢、肝臓の小葉間胆管、および脾臓の小葉間導管の上皮内に分布していたが、呼吸器と妊娠後期の子宮を含む泌尿生殖器の上皮内には認められなかった。これらの臓器に分布するGLの顆粒は、上皮下の肥満細胞と異なり、抗パーフォリン抗体に対し陽性反応を示し、抗ヒスタミン抗体には反応しなかった。これらの結果から、ネコGLは上皮内顆粒リンパ球である可能性が強く示唆された。しかしながらネコのTリンパ球マーカーであるCD5、CD4、CD8はいずれも陰性であった。パーフォリン様免疫活性を示す細胞は、胎生後期の胎子小腸の上皮内にも観察され、GL、すなわち有顆粒リンパ球の小腸への定着は胎生期に起こることが示された。ネコGLの上皮指向性と顆粒リンパ球としての特徴は、マウスの腸管に分布する $\gamma\delta$ T細胞のそれらと類似していた。

3. ヤギにおけるGLの全身分布と免疫組織化学的性状

健常な成熟ヤギと6ヶ月齢の子ヤギにおいて、GLは第四胃から大腸までの消化管、胆嚢、肝臓の小葉間胆管、気管支、および妊娠後期ならびに分娩後2日の子宮（成熟ヤギ）の上皮内に分布していた。小腸へのGLの出現は、胎生後期では認められず、2日齢以後から認められた。

これらGLは、上皮下の肥満細胞と異なり、ヒスタミン免疫活性とペルオキシダーゼ反応が陰性であった。またアルシアン青染色と酵素消化法によって、GLの顆粒内にはコンドロイチン硫酸が、上皮下の肥満細胞の顆粒内にはコンドロイチナーゼ抵抗性硫酸ムコ多糖が含まれることが示された。

小腸から単離した細胞の塗沫標本と、小腸の凍結切片による免疫染色の結果から、GLはpan $\gamma\delta$ T細胞マーカーであるTcR1-N24が陽性であるものの、末梢血中の $\gamma\delta$ T細胞と異なり、WC1分子が陰性で、CD8 α が陽性であることが証明された。小腸における $\gamma\delta$ T細胞の出現は、GLが確認されなかった胎生後期の胎子においても観察された。

以上の結果から、GLは顆粒含有 $\gamma\delta$ T細胞であり、細胞膜抗原の性状から、末梢血中の循環 $\gamma\delta$ T細胞とは異なる細胞群であることが示され

た。さらにGLの小腸への定着は胎生後期以前に起こり、GLの特徴である大型細胞質内顆粒の形成は、周生期に始まることが示唆された。

上述のごとく、ゲッ歯目動物のGLは顆粒リンパ球と肥満細胞からなる不均質な細胞群であり、また食肉目および反芻亜目動物のGLは顆粒リンパ球のみからなる均質な細胞群であることが明らかとなった。今後は、GLという名称を避け、食肉目および反芻亜目動物では上皮内顆粒リンパ球、ゲッ歯目動物では上皮内顆粒リンパ球または肥満細胞とする正確な呼称が必要と考えられた。

学位論文審査の要旨

主査 教授 岩永敏彦
副査 教授 板倉智敏
副査 教授 小沼操
副査 助教授 橋本善春

学位論文題名

哺乳動物の globule leukocyte の由来に 関する免疫組織化学的研究

Globule leukocyte (GL) は鳥綱および哺乳綱に属する動物の粘膜上皮内に分布する、エオシン好性の大型細胞質内顆粒を有する单核球である。本細胞の由来細胞種については、鳥綱では異論なくリンパ球説が受け入れられているが、哺乳綱ではリンパ球説と肥満細胞説に意見が分かれている。申請者は、ゲッ歯目動物からマウスを、食肉目動物からネコを、反芻亜目動物からヤギを供試動物に選択し、哺乳動物におけるGLの由来細胞種を決定すべく、免疫組織化学的手法を中心とした形態学的研究を行った。

健常成熟マウスの前部小腸と胃体腺部を観察した結果、アルシアン青好性、セロトニン陽性、およびヒスタミン陽性の肥満細胞と、CD(cluster differentiation)8 α 陽性の顆粒含有T細胞の二種類のGLの存在が示され、マウスGLの不均質性が明らかとなった。この不均質性が、これまでゲッ歯目動物におけるGLの由来細胞種に関する意見の不一致を招いていたものと考えられた。

健常成熟ネコにおいて、GLは胃から大腸までの消化管と、胆道および脾臓の導管の上皮内に分布していた。これらの臓器に分布するGLはバーフォリン様免疫活性を示し、かつヒスタミンが陰性のことから、上皮内顆粒リンパ球であることが示された。ネコGLの上皮指向性と顆粒リンパ球としての特徴は、マウスの腸管に分布する $\gamma\delta$ T細胞のそれらと類似していた。

健常成熟ヤギにおいて、GLは第四胃から大腸までの消化管、胆道、気管支、および妊娠後期と分娩後2日の子宮の上皮内に分布していた。これらの臓器に分布するGLは、ヒスタミンが陰性で、ヤギのpan $\gamma\delta$ T細胞マーカーであるTcR1-N24が陽性であることから、顆粒含有 $\gamma\delta$ T細胞であることが示された。しかし上皮内 $\gamma\delta$ T細胞は、末梢血中の $\gamma\delta$ T細胞と異なり、WC1分子が陰性で、CD8 α が陽性であり、組織定着性の細胞群であることが示唆された。

以上のように、申請者の研究によって哺乳動物におけるGLの由来細胞種が明らかになり、これまでの混乱が解消されるとともに、粘膜免疫、特に $\gamma\delta$ T細胞の機能の解明に重要な知見が提供された。よって審査員一同は、今野明弘氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。